

ANDERSON DOMINGUES GOMES

**CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO GONADAL E DADOS
PRELIMINARES DO CICLO REPRODUTIVO DE *Scinax imbegue*
(AMPHIBIA ANURA), NA ILHA DO MEL, LITORAL DO ESTADO DO
PARANÁ.**

CURITIBA

2013

TERMO DE PAROVAÇÃO

ANDERSON DOMINGUES GOMES

**CARACTERIZAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO GONADAL E DADOS
PRELIMINARES DO CICLO REPRODUTIVO DE *Scinax imbegue*
(AMPHIBIA ANURA), NA ILHA DO MEL, LITORAL DO ESTADO DO
PARANÁ.**

Monografia apresentado ao Curso de Ciências
Biológicas, como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em Ciências
Biológicas, pela seguinte banca examinadora.

Banca examinadora

Prof. Dr. Luís Fernando Fávaro
Orientador, departamento de biologia celular

Prof^a. Dra. Flavia Sant'Anna Rios
Departamento de Biologia celular

Msc. Diego Zanlorenzi
Doutorando, departamento de Zoologia

CURITIBA

2013

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família pelo seu apoio durante a minha jornada acadêmica principalmente aos meus irmãos Marcelo e Rodrigo. Ao meu orientador pela sua paciência no esclarecimento das minhas dúvidas, seis meses me orientando no caminho acadêmico correto. Aos amigos Ênio, Janine, Lucas, Suellen, Sheila e aos colegas de laboratório, em especial ao Thiago (Burda), Diego, Bianca e Wanessa.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Mapa do litoral do Paraná mostrando a ilha do Mel e o local de coleta (Mar de Fora), indicado pela seta azul.....	4
Figura 2 - Área de coleta localizada no Mar de Fora.....	5
Figura 3 - Exemplar de <i>S. imbegue</i> , espécie analisada no presente estudo.....	7
Figura 4 – Corte histológico de testículo de <i>S. imbegue</i> : A- lóculo seminífero com a seta demonstrando espermatogônias (EG); B- lóculos seminíferos com espermatócito I (ET1) indicados pela seta amarela e espermatídes I (ED1) indicadas pela seta azul; C- lóculos seminíferos com espermatócito I (ET1) indicados pela seta amarela, espermatócito II (ET2) indicado pela seta vermelha, espermatídes I (ED1) indicadas pela seta azul e espermatídes II (ED2) indicadas pela seta preta; D- lóculos seminíferos preenchidos por espermatozóides (EZ). Hematoxila-Eosina, escala 45µm	8
Figura 5 – Corte histológico de ovário de <i>S. imbegue</i> evidenciando ovócitos maduros. Hematoxilina-Eosina, escala 180µm.	9
Figura 6 – Distribuição mensal do IGS individual para <i>S. imbegue</i> coletadas na Ilha do Mel, PR.....	10
Figura 7– Curva de Maturação de machos de <i>S. imbegue</i> . As linhas verticais representam o Desvio Padrão.	10
Figura 8 – Chuva acumulada mensal para o período de coleta na Ilha do Mel, PR. Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia- INMET.....	11
Figura 9 – Distribuição da frequência absoluta de estádios testiculares de <i>S. imbegue</i>	11
Figura 10 – Distribuição da frequência absoluta de indivíduos jovens e adultos de <i>S. imbegue</i>	12

RESUMO

Considerando-se que a reprodução é um elemento crucial para o estabelecimento e sucesso de uma espécie em um determinado ambiente, este trabalho visa caracterizar o desenvolvimento gonadal da espécie *Scinax imbegue* (Anura: Hylidae), presente na ilha do Mel, localizada no complexo estuarino de Paranaguá. Com o objetivo de caracterizar o desenvolvimento gonadal, confeccionar uma escala de maturidade para machos e inferir sobre o ciclo reprodutivo, o presente estudo consta de coletas mensais de material biológico, realizadas no período de janeiro a dezembro de 2013. Dos indivíduos coletados, em laboratório, foram tomados os dados morfométricos: comprimento rostro-cloacal (mm) e peso total (g) e, posteriormente, seccionados ventralmente, permitindo caracterizar o sexo e estágio de desenvolvimento gonadal macroscópico. As gônadas foram retiradas e pesadas (g) e fixada em ALFAC por 18 horas e destinada ao processo histológico de rotina, sendo incluídas em Paraplast e coradas com Hematoxilina-Eosina. Com as análises histológicas conseguimos identificar quatro tipos celulares para a linhagem espermatogênica: espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozóides e classificar a espécie como sendo de reprodução contínua devido a presença constante de células germinativas em estágio avançado de desenvolvimento, caracterizando os testículos em maturação e maduros, associado com a presença de indivíduos juvenis em 50% das coletas realizadas. O IGS foi calculado apenas para os espécimes machos, o qual não mostrou variação expressiva ao longo do tempo. Entretanto, os maiores valores foram encontrados nos meses de junho e julho. Pelo baixo número de fêmeas obtidas no estudo não foi possível realizar as análises reprodutivas e obter dados de maneira eficiente.

Palavras chaves: histologia, espermatogênese, Hylidae, região estuarina.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	IV
RESUMO.....	V
INTRODUÇÃO.....	1
MATERIAL E MÉTODOS.....	4
RESULTADOS.....	6
DISCUSSÃO.....	12
CONCLUSÃO.....	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	14

INTRODUÇÃO

Anfíbios constituem um importante grupo componente da biodiversidade que nos últimos tempos emergiu como uma preocupação global de preservação devido à queda do número de espécies deste grupo.

As causas do declínio do referido grupo deve-se a diversas mudanças nas condições ambientais que atuam de forma sinérgica ou isoladamente, entre essas mudanças estão: radiação UV (SILVANO *et al.*, 2005), doenças (DASZA *et al.*, 2003), mudanças no clima global (D'AMEN *et al.*, 2011), perda e degradação de habitat. Muitas vezes a perda de habitat é causada pela ação antrópica como, por exemplo, desmatamento, alteração da qualidade dos corpos d'água, avanço da urbanização, da agricultura e dos efeitos de pesticidas, da mineração, das queimadas, e da introdução de espécies exóticas, as quais competem e muitas vezes até predam as espécies nativas (SILVANO *et al.*, 2005).

A ordem Anura, representada por sapos, rãs e pererecas, constitui o mais diverso e abundante grupo de anfíbios, com distribuição cosmopolita e ocorrência em habitats onde haja água doce, contendo o maior número de espécies em ambientes de florestas tropicais.

Pelo fato de possuir a pele úmida, os espécimes deste grupo não podem controlar a perda de água e, conseqüentemente, eles são dependentes de água fresca, limpa e de habitat úmidos, o que os torna extremamente vulneráveis às alterações na qualidade da água ou do solo, bem como à mudança climática. Em função disso, estes organismos podem ser considerados bioindicadores de qualidade ambiental e a ocorrência de algumas espécies ou comunidades têm sido sugeridas como objeto de estudo na formulação de planos de manejo e de conservação de ambientes terrestres e aquáticos (GIBBONS, 1988).

Tendo em vista a progressiva degradação e a perda de habitats naturais, que resultam em declínios populacionais e extinção local de espécies e considerando que a reprodução é um elemento crucial para o estabelecimento e sucesso de uma espécie, tornam-se necessários trabalhos que descrevam a biologia das espécies presentes nos mais diversos habitats, para delinear estratégias de conservação, contribuindo para o conhecimento, segundo SILVANO *et al.*, (2005), reverter o quadro de poucas informações sobre a história de vida, história natural ou ecologia das espécies de anuros neotropicais.

O ciclo reprodutivo dos anfíbios está sujeito ao controle hormonal, que dentro de certos limites responde as variáveis ambientais e produz certos padrões (DUELLMAN; TRUEB, 1994).

A preparação para a reprodução tem início em nível celular, ocorrendo a partir da liberação de hormônios. Estímulos sazonais sobre o hipotálamo induzem a liberação em fêmeas e machos a liberação hormonal que chegam as gônadas através da circulação, induzindo a gametogênese (ZUG, 1993).

A ovogênese é semelhante a mesma para todos os grupos de anfíbios. O desenvolvimento dos ovogônias em ovócitos ocorre nos ovários. As ovogônias, através de mitose, dão origem a ovócitos primários que sofrem divisão meiótica para originar os ovócitos secundários, sendo estes delimitados por uma membrana celular, uma zona pelúcida e uma única camada de células foliculares (GARCIA & GARCIA-FERNÁNDEZ, 2001). Durante o desenvolvimento dos folículos ovarianos pode-se diferenciar dois grandes grupos de folículos: folículos pré-vitelogênicos (citoplasma do ovócito sem inclusões citoplasmáticas) e folículos vitelogênicos (citoplasma do ovócito contendo vesículas citoplasmáticas e/ou grânulos de vitelo). Os folículos pré-vitelogênicos, incorporando nutrientes, aumentam seu tamanho em aproximadamente dez vezes até se tornarem folículos maduros.

Os testículos, locais de formação dos gametas masculino, encontram-se localizados na cavidade abdominal, junto à porção cranial dos rins, apresentam-se assimétricos e com forma ovóide, estando em contato lateral com o corpo adiposo que serve como uma reserva lipídica para a manutenção das células germinativas. Os testículos são compostos por lóculos constituídos pelas células da linhagem germinativa masculina. Os testículos, estruturalmente simples, dos anuros aumentam em tamanho e peso durante a espermatogênese.

A fecundação na maioria das espécies de anuros é externa. No momento do acasalamento o macho abraça a fêmea (amplexo) e expele seus espermatozoides sobre os ovócitos que ela libera (ETEROVICK & SAZINA, 2004). A eliminação dos gametas ocorre na água, na vegetação, em tocas ou na terra (quando o material fica imerso em espuma para evitar a desidratação). Algumas espécies de anuros reproduzem-se ao longo de todo o ano, enquanto outras se restringem a estação chuvosa.

O padrão reprodutivo de anuros, segundo SANTOS e OLIVEIRA (2007) pode ser dividido em: contínuo, descontínuo e potencialmente contínuo. As espécies com

comportamento contínuo, em geral, não mostram intervalos entre os períodos de reprodução, sempre havendo células gametas maduros para quando ocorram períodos de condições ambientais favoráveis. Segundo MARAGNO, (2009) os anuros de regiões tropicais tendem a apresentar ciclos reprodutivos contínuos, apresentando células germinativas preparadas a responder rapidamente aos estímulos ambientais. As espécies com comportamento descontínuo são normalmente encontradas em zonas temperadas e geralmente possuem um período reprodutivo curto com mudanças sazonais no tamanho das gônadas, na produção de gametas e nas estruturas sexuais acessórias. No tipo potencialmente contínuo, ocorre uma interrupção parcial na atividade de produção de gametas durante algumas estações do ano, porém com algumas células germinativas sensíveis a estimulação gonadotrófica (SANTOS e OLIVEIRA, 2007)

O objeto de estudo deste trabalho é a espécie *Scinax imbegue*, por ter ocorrência nos ambientes de mata atlântica, o qual sofre intensa atividade antrópica e têm seus habitats reduzidos e/ou modificados.

O gênero *Scinax* é caracterizado por diversos modos reprodutivos, por exemplo: ninhos em espuma, ovos depositados em corpos d'água lóticos, sendo que a maioria das espécies depositam seus ovos em ambientes aquáticos lênticos onde os girinos se desenvolvem. Muitas espécies do referido gênero apresentam um dimorfismo sexual em tamanho, sendo geralmente as fêmeas maiores que os machos (TOLEDO & HADDAD, 2005).

Segundo NUNES *et al.* (2012), a espécie *Scinax imbegue* (anteriormente denominada de *S. alter*), possui um tamanho moderado, tendo os machos comprimento rostro cloacal (CRC entre 28,5 – 35,0 mm), tamanhos menores do que as fêmeas (CRC entre 28,8 – 38,0 mm). Ambos os sexos apresentam padrão dorsal, geralmente, com listra central branca dorsolateral, delimitadas por listras marrons, sendo esta uma característica que distingue *S. imbegue* de outras espécies do gênero *Scinax*, que possuem um listrado dorsolateral padrão. O padrão dorsal nem sempre contem uma listra branca em ambos os lados. Esta espécie possui a superfície dorsal lisa diferentemente do que ocorre com outras espécies. Possui a partir do canto posterior do olho para o ombro, saco vocal moderadamente desenvolvido. A espécie distribui-se, segundo POMBAL; GORDO, 1994 citado por (NUNES & POMBAL, 2012), em áreas Floresta Atlântica do sul do estado de São Paulo até o litoral norte de Santa Catarina.

O presente trabalho objetivou a caracterização histológica das fases do desenvolvimento das células germinativas e a partir destas, confeccionar uma escala de maturidade gonadal para *S. imbegue*. Com a utilização das análises histológicas do desenvolvimento gonadal, objetiva-se ainda, caracterizar o tipo de ciclo e o período reprodutivo da espécie.

MATERIAIS E MÉTODOS

A Ilha do Mel, localizada na entrada da baía de Paranaguá, litoral do estado da Paraná, sob as coordenadas 25 ° 30' S; 48 ° 19 W (Fig. 1), apresenta uma área de aproximadamente 2760 ha e perímetro em torno de 35km. Segundo a classificação de Köeppen a ilha localiza-se na transição entre as zonas tropical e temperada, o clima da região é subtropical úmido mesotérmico (Cfa), a temperatura no mês mais quente apresenta uma média acima de 22°C e no mês mais frio abaixo de 18°C, com umidade média da região de 85% e precipitação média anual de 2500 mm (LANA *et al.*, 2001).

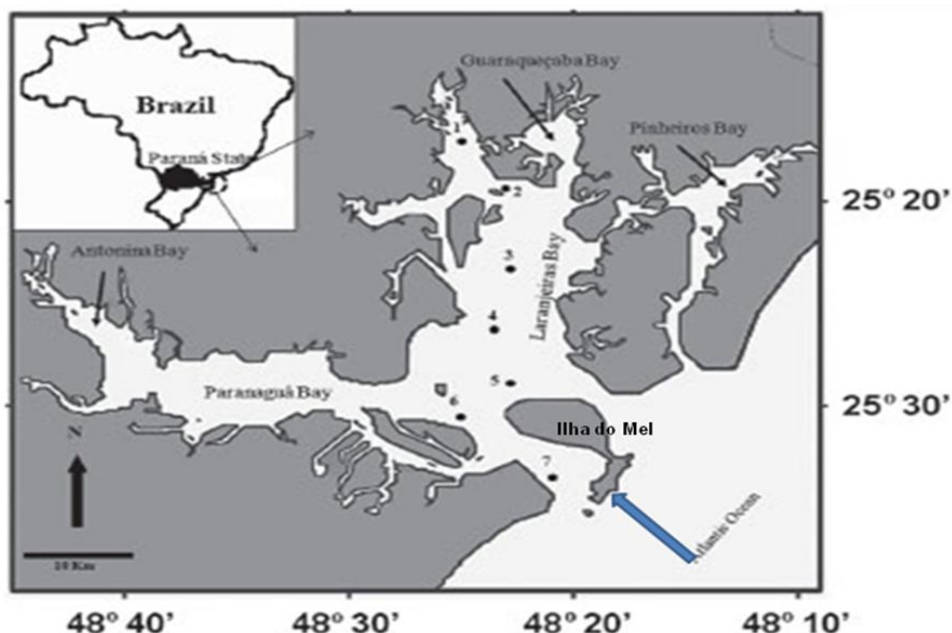


Figura 1 – Mapa do litoral do Paraná mostrando a ilha do Mel e o local de coleta (Mar de Fora), indicado pela seta azul.

As coletas foram realizadas, mensalmente no período de janeiro a dezembro de 2013, em uma área de poça permanente (Fig. 2), no sul da Ilha do Mel, localizada na região do Mar de Fora. A obtenção dos espécimes foi realizada no período noturno, com três horas de esforço amostral, sendo os animais capturados pela busca direta, manualmente e de forma aleatória, sem distinção de sexo e tamanho. Os animais foram acondicionados em sacos plásticos, sendo posteriormente mantidos resfriados em isopor.



Figura 2 - Área de coleta localizada no Mar de Fora.

Em laboratório os espécimes tiveram suas medidas morfométricas tomadas: comprimento rostro-cloacal (CRC), em milímetros (mm), com a utilização de um paquímetro eletrônico; peso total (Pt) em gramas (g), utilizando-se uma balança de precisão. Posteriormente, os espécimes tiveram a região ventral seccionada para a exposição das gônadas, permitindo assim, a determinação macroscópica do sexo e do estágio do desenvolvimento gonadal. As gônadas foram retiradas, pesadas (Pg) e destinadas ao processamento histológico.

Para a caracterização do desenvolvimento das células germinativas e para confecção das escalas de maturidade, as gônadas destinadas à histologia foram fixadas em ALFAC por 18 horas, desidratadas em série crescente alcoólica, diafanizadas em xilol, incluídas em Paraplast, cortadas em micrótomo à 5 µm e coradas com hematoxilina e eosina (HE), sendo posteriormente analisadas em microscopia de luz.

Para avaliar o desenvolvimento gonadal ao longo do período de estudo e confeccionar as curvas de maturação utilizou-se o índice gonadosomático (IGS), expresso pela fórmula $IGS = (Pg/Pt) \times 100$, o qual demonstra a relação entre o peso da gônada e o peso total do exemplar.

RESULTADOS

Exemplares de *Scinax imbegue* (Fig. 3) foram obtidos no presente estudo em número total de 152 espécimes, sendo quatro fêmeas, 137 machos e onze juvenis. Nos meses de abril e maio, não houve obtenção de animais. Os exemplares coletados em agosto não puderam ser pesados, entretanto foram seccionados e tiveram a determinação do sexo e posteriormente classificados em jovens ou adultos.

Através da análise morfométrica evidenciou-se que o comprimento rostro-cloacal médio para fêmeas foi de $28,89 \pm 1,97$ mm e para os machos $25,20 \pm 3,20$ mm. O peso total médio das fêmeas foi de $1,58 \pm 0,31$ g, e dos machos de $1,16 \pm 1,06$ g.

O número reduzido de fêmeas inviabilizou a caracterização histológica e a confecção da escala de maturidade ovariana. Através das análises histológicas foram caracterizados quatro tipos de células germinativas masculinas: espermatogônias, espermatócitos, espermátides e espermatozóides.



Figura 3 - Exemplar de *S. imbegue*, espécie analisada no presente estudo.

As espermatogônias são as maiores células da linhagem germinativa e apresentam um núcleo grande e menos corado do que os outros tipos celulares, o citoplasma mostra-se levemente eosinófilo (Fig. 4A). Os espermatócitos têm origem da divisão mitótica das espermatogônias e mostram-se com núcleo bem evidente e corado e, um citoplasma reduzido e mais eosinófilo, em relação às espermatogônias (Fig. 4B). Os espermatócitos I são arredondados e menores que as espermatogônias, enquanto os espermatócitos II reduzem pela metade o volume do espermatócito I. As espermátides inicialmente são arredondadas com os núcleos bem corados e mostram-se menores do que os tipos descritos anteriormente. Com o decorrer do desenvolvimento as espermátides arredondadas se alongam e perdem citoplasma, mostrando-se como evidentes filamentos basófilos (Fig. 4C). Os

espermatozóides são as menores células da linhagem espermatogênica, mostram-se com o formato de vírgula e um pequeno núcleo denso (Fig. 4D).

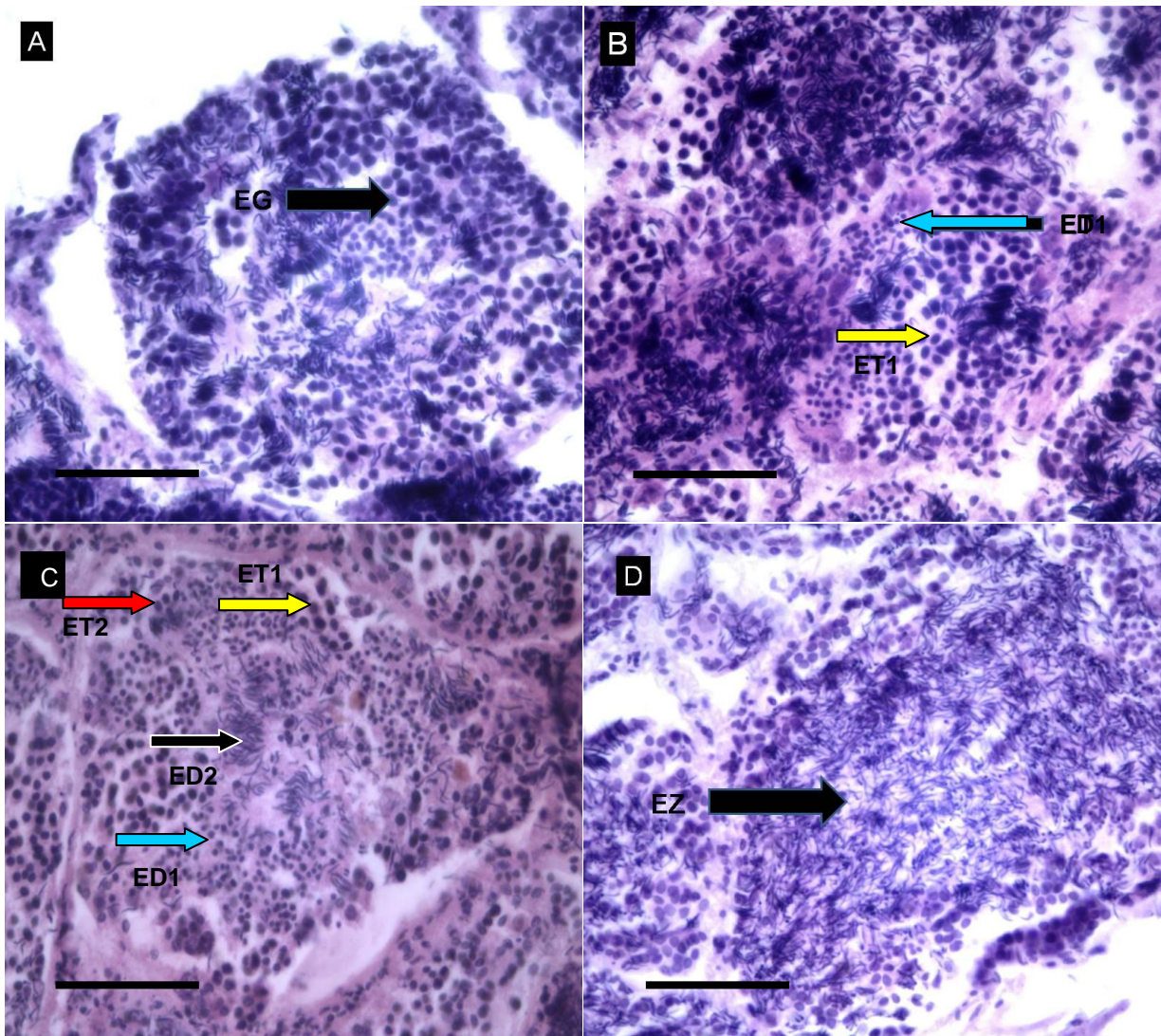


Figura 4 – Corte histológico de testículo de *S. imbegue*: A- lóculo seminífero com a seta demonstrando espermatogônias (EG); B- lóculos seminíferos com espermatócito I (ET1) indicados pela seta amarela e espermátides I (ED1) indicadas pela seta azul; C- lóculos seminíferos com espermatócito I (ET1) indicados pela seta amarela, espermatócito II (ET2) indicado pela seta vermelha, espermátides I (ED1) indicadas pela seta azul e espermátides II (ED2) indicadas pela seta preta; D- lóculos seminíferos preenchidos por espermatozóides (EZ). Hematoxila-Eosina, escala 45µm.

A partir do desenvolvimento das células da linhagem espermatogênica, considerando sua organização nos lóculos seminíferos, foi possível observar dois estádios de desenvolvimento testicular: em Maturação (B) e Maduro (C). O estágio em Maturação (B) (Figs. 4A, 4B e 4C) se caracteriza por apresentar nos lóculos seminíferos redução na quantidade de espermatogônias e um número maior de

espermátocitos e espermátides. O estágio maduro (C) (Fig. 4D) exibe poucos tipos celulares da linhagem espermatogênica e um predomínio de espermatozoides fazendo o preenchimento do lóculo seminífero.

Das quatro fêmeas capturadas, três em fevereiro e uma em março, os ovários mostraram-se quando analisados macroscopicamente, aparência granulosa de cor preta, sendo classificados como maduros. Através das análises histológicas foi confirmada a classificação macroscópica, sendo possível observar um tipo celular da linhagem germinativa feminina: ovócitos maduros, que tem como característica o citoplasma preenchido por grande quantidade de grânulos de vitelo (Fig. 5).

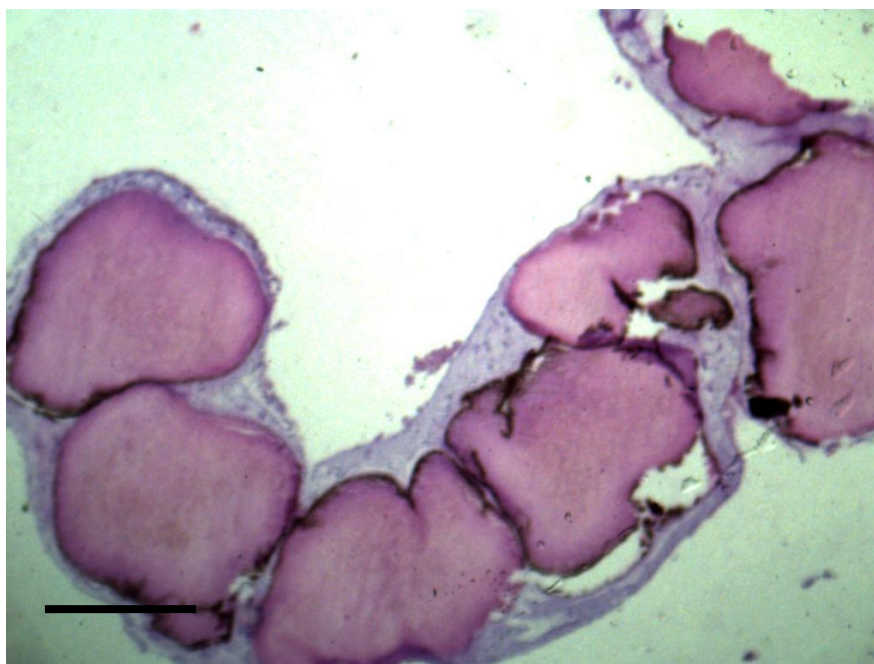


Figura 5 – Corte histológico de ovário de *S. imbegue* evidenciando ovócitos maduros. Hematoxilina-Eosina, escala = 180µm.

A determinação do IGS individual dos machos (Fig. 6) ao longo dos meses analisados indica que os maiores valores foram registrados nos meses de junho e julho, entretanto a variação no valor do IGS no período de estudo apresentou-se reduzida. A curva de maturação dos machos (Fig. 7), confeccionada a partir do IGS médio mensal, demonstrou valores muito próximos entre os meses analisados, porém, apresentaram uma tendência a terem valores mais elevados nos meses de junho e julho, corroborando a determinação do IGS individual. Os maiores valores do

IGS médio mensal ocorreram no período mais seco do ano quando relacionados com a precipitação acumulada (Fig. 8).

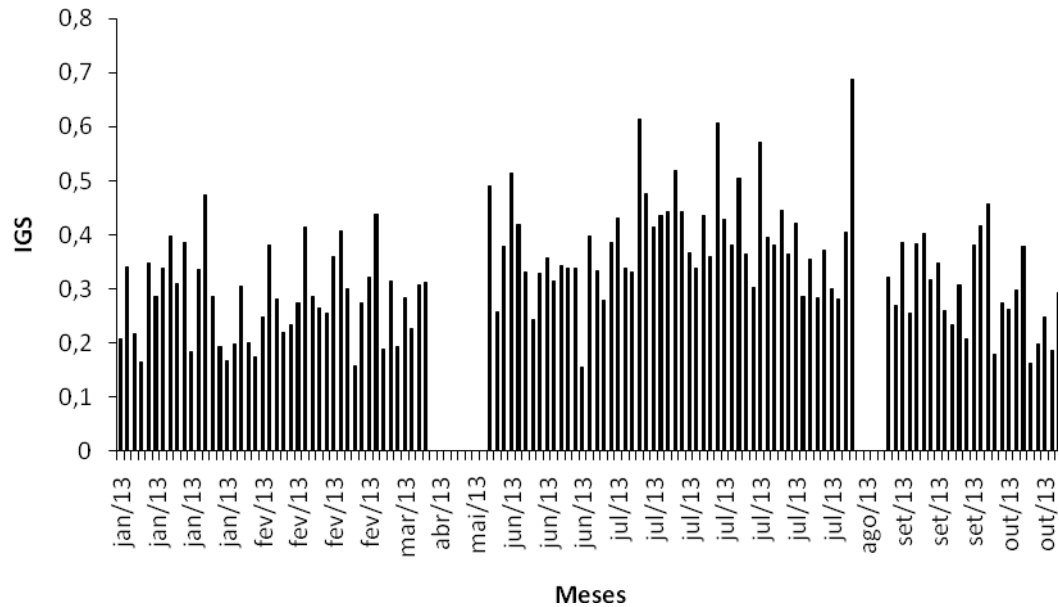


Figura 6 – Distribuição mensal do IGS individual para *S. imbegue* coletadas na Ilha do Mel, PR.

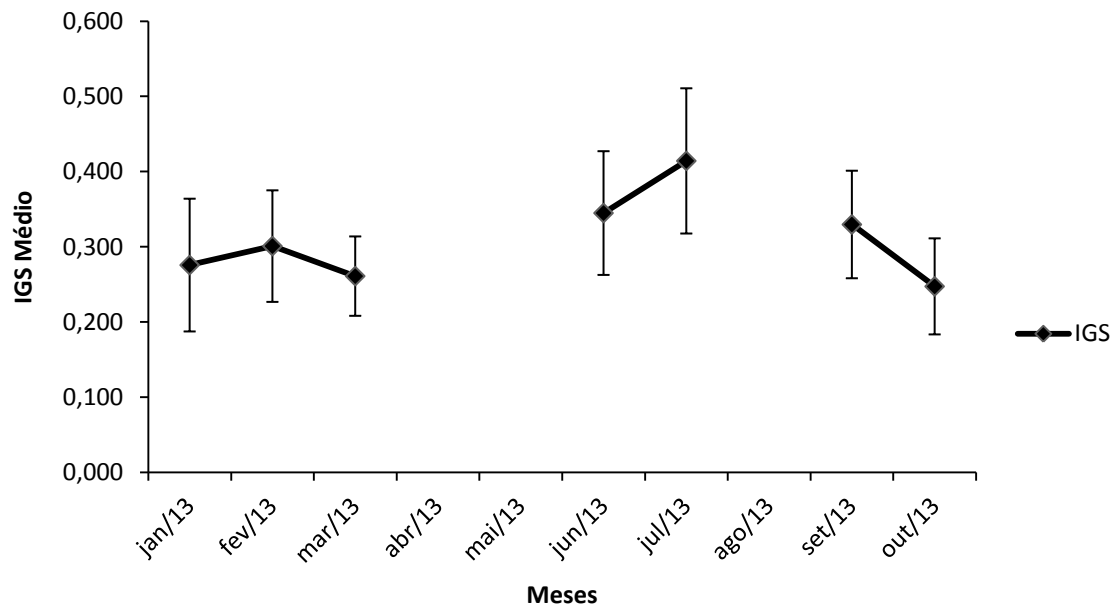


Figura 7– Curva de Maturação de machos de *S. imbegue*. As linhas verticais representam o Desvio Padrão.

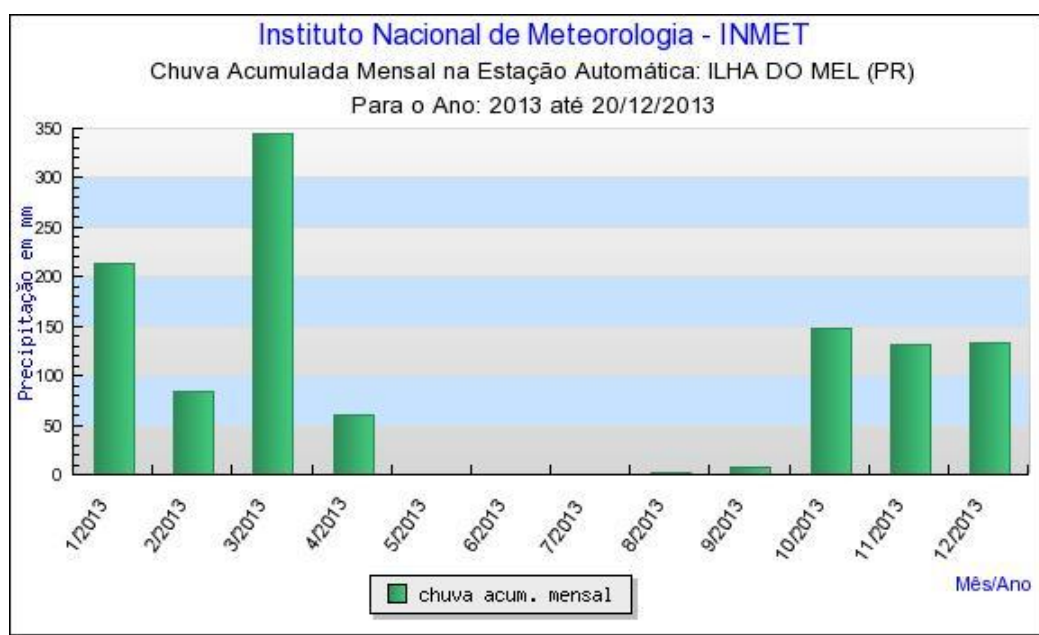


Figura 8 – Precipitação acumulada mensal para o período de coleta na Ilha do Mel, PR. Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia- INMET.

Com base na análise histológica, a distribuição mensal dos estádios de desenvolvimento testicular permitiu evidenciar que durante o período de estudo, os machos encontravam-se em atividade reprodutiva, indicada pela presença de testículos maduros em todos os meses (Fig. 9). As fêmeas obtidas nos meses de fevereiro e março apresentaram os ovários maduros.

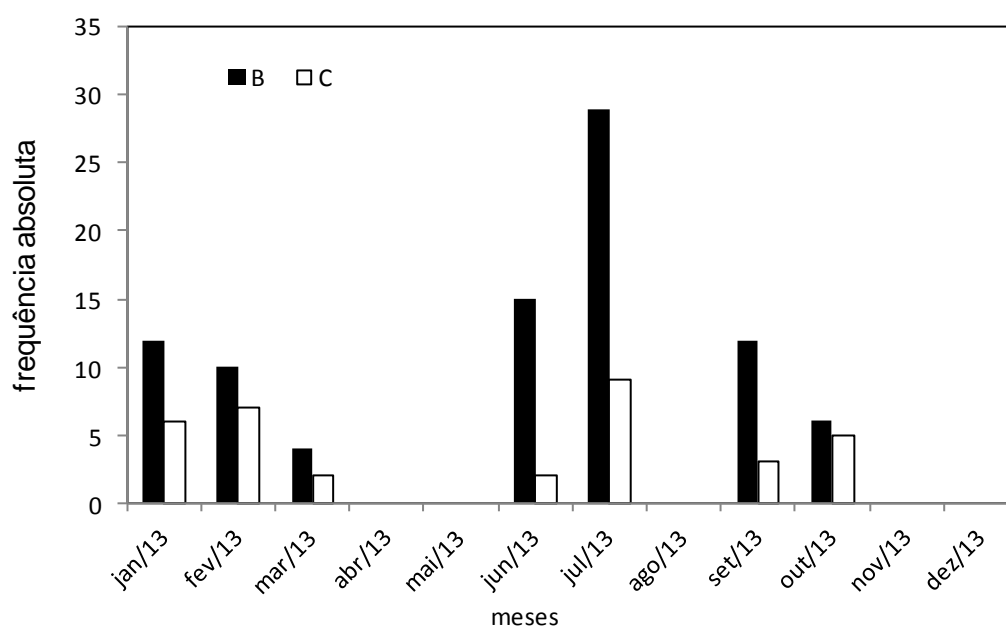


Figura 9 – Distribuição da frequência absoluta de estádios testiculares de *S. imbegue*. B (indivíduos em maturação avançada; C (indivíduos maduros).

Indivíduos jovens (gônadas imaturas) foram obtidos em números reduzidos nas amostras mensais, sendo capturados nos meses de janeiro, fevereiro, março e julho (Fig. 10). O CRC dos jovens de *S. imbegue* variou de 10,63mm a 16,39mm. O menor indivíduo em atividade reprodutiva teve o CRC de 17,02mm.

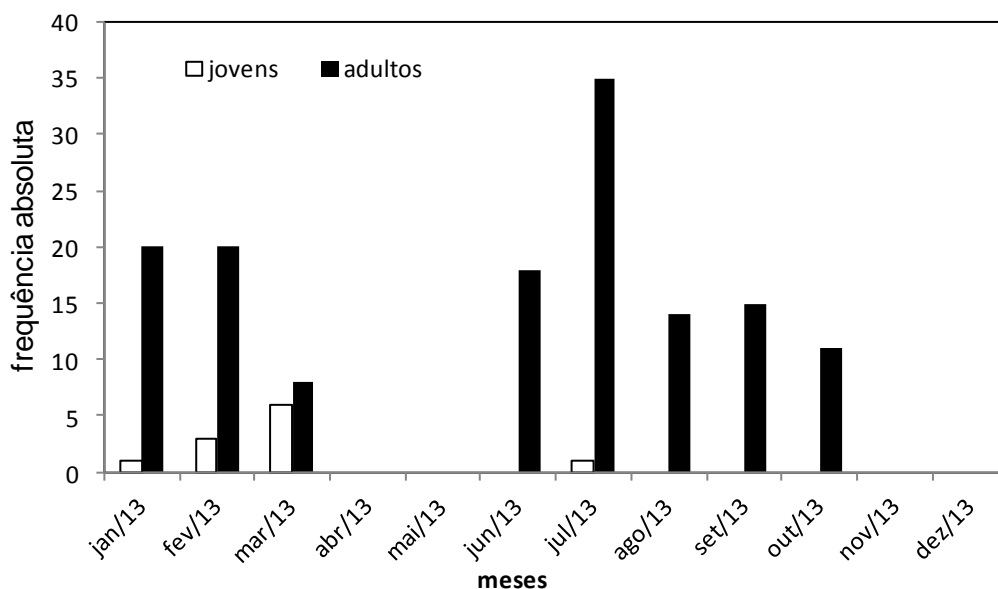


Figura 10 – Distribuição da frequência absoluta de indivíduos jovens e adultos de *S. imbegue*.

DISCUSSÃO

O método de captura, utilizado no presente estudo, busca direta através da vocalização dificulta a captura de fêmeas e indivíduos jovens,, pois trata-se de uma espécie de pequeno porte, na qual somente machos adultos vocalizam. Nos meses de abril e maio não foram obtidos exemplares, não sendo registrada atividade de vocalização.

Uma característica da família Hylidae é o dimorfismo sexual em tamanho entre machos e fêmeas (SHINE, 1979; MELCHORS *et al.*, 2004). Os resultados obtidos neste estudo, para a espécie *S. imbegue*, corroboram tal afirmação, sendo evidenciados na amostra obtida os maiores CRC para fêmeas. Um dos motivos para o dimorfismo, segundo MELCHORS (2004), é a possibilidade de que fêmeas maiores podem vir a produzir mais ovos ou desovas maiores, além de ter a possibilidade de realizarem mais de uma desova por temporada reprodutiva. Outra

questão que pode ser levantada é a de que machos, por estarem mais expostos, tendem a sofrer uma pressão predatória mais elevada do que as fêmeas, o que causa uma redução no tamanho dos machos (HOWARD, 1981).

Estudos sobre a biologia reprodutiva de anfíbios costumam descrever a época de reprodução baseando-se em períodos que ocorrem vocalizações dos machos adultos (MELCHIORS *et al.*, 2004; PRADO; UETANABARO, 2000; TOLEDO *et al.*, 2003), também fazendo uma relação com os fatores abióticos que podem influenciar na reprodução, tal como precipitação. A utilização da vocalização pode não ser um indicativo correto para considerar o processo reprodutivo, uma vez que machos também vocalizam para manter o território reprodutivo, defendendo sua área de outros machos invasores. Assim, a análise histológica, utilizada no presente estudo, mostrou-se um método eficiente e seguro para caracterizar o desenvolvimento gonadal e inferir sobre a época reprodutiva.

Para espécies com dependência total ou parcial de lagoas temporárias, a chance de a reprodução ser sazonal é alta (VALDERRAMA-VERNAZA, SERRANO-CARDOZO & RAMÍREZ-PINILLA, 2010), o que não acontece com a espécie estudada, uma vez que o trabalho foi desenvolvido em poça permanente.

O fato de encontrarmos machos em maturação e maduros durante todos os meses do ano, permite inferir que estão sempre prontos para se reproduzirem. A obtenção de indivíduos jovens em 50% das coletas realizadas ao longo do período, apesar do número reduzido, permite inferir que a população de *S. imbegue* pode apresentar uma reprodução contínua, assim como grande parte dos anuros pertencentes à família Hylidae de regiões tropicais e subtropicais (KAEFER *et al.*, 2007).

Segundo FERREIRA *et al.* (2009), em regiões tropicais de clima sazonal, a atividade reprodutiva de anuros está intimamente relacionada ao período chuvoso. Na área de realização do presente estudo, região subtropical, houve um período de estiagem referente aos meses de maio, junho e julho, com ocorrência de baixa frequência de chuva em agosto (Fig. 8). Entretanto, apesar de diminuir a área da poça, a mesma não desapareceu e parece que a estiagem não interferiu negativamente no processo reprodutivo, uma vez que os maiores valores de IGS médio mensal foram determinados neste período.

Pelo fato do presente trabalho ter sido realizado próximo a uma estação ecológica, a qual ocupa grande parte da Ilha do Mel, a região analisada parece não

sofrer grande intensidade de ações antrópicas e a presença de anfíbios pode ser um bom indicativo de que a área ainda está bem preservada, principalmente em relação a qualidade da água. A reprodução contínua pode ser a estratégia utilizada pela espécie para alcançar o sucesso reprodutivo e se manter no ambiente.

CONCLUSÃO

Os dados obtidos no estudo reprodutivo da população de *S. imbegue*, a partir da análise histológica das gônadas dos machos, verificou-se que os mesmos apresentam-se prontos a se reproduzir durante todo o período analisado, contribuindo assim para caracterizar a reprodução contínua, como estratégia utilizada para alcançar o sucesso reprodutivo.

Ainda, por se tratar de uma espécie recentemente descrita e pela distribuição natural da mesma é de fundamental importância os trabalhos de autoecologia que auxiliam no conhecimento da biologia, subsidiando a conservação da espécie e do ambiente utilizado pela mesma.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- D'AMEN M.; BOMBI P.; PEARMAN P. B.; SCHMATZ D.R.; ZIMMERMANN N. E.; BOLOGNA M. A. Will climate change reduce the efficacy of protected areas for amphibian conservation in Italy? *Biological Conservation*. 144 989–997. 2011.
- DASZAK, P., CUNNINGHAM, A.A., HYATT, A.D. Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions* v.9, p.141–150. 2003.
- DUELLMAN, W.E. & L. TRUEB. **Biologia dos anfíbios**. New York, McGraw-Hill . 1994.
- ETEROVICK, P. C.; SAZINA, I. Anfíbios da serra do cipó Minas Gerais – Brasil. Ed. Pucminas, 2004.
- FERREIRA, A.; ROSA, A. B. S.; MEHANNA, M. Organização celular dos testículos em Hylidae e Leptodactylidae, no Pantanal (Estado do Mato Grosso do Sul, Brasil). *Acta Scientiarum*, v. 31, n. 4, p. 447-452, 2009.
- GARCIA, S.M.L.; GARCIA-FERNÁNDEZ, C.G. *Embriologia* . Artmed editora – 2º edição 2001.
- GIBBONS, W. The management of amphibians, reptiles and small mammals in North America: the need for an environmental attitude. 1988.
- HOWARD, R. D. Sexual dimorphism in bullfrogs. *Ecology*, New York, v. 62(2): p.303-310. 1981.
- INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA – INMET, acesso em 30 de novembro de 2013 (WWW.inmet.gov.br).

- KAEFER, I.L ; BOELTER, R.A.; CECHIN, S.Z. Reproductive biology of the invasive bullfrog *Lithobates catesbeianus* in southern Brazil. Finnish Zoological and Botanical. V. 44. 2007.
- LANA, P.C.; MARONE, E.; LOPES, R.M.; MACHADO, E. The subtropical estuarine complex of Paranaguá Bay, Brazil. In: Seeliger, U., Kjerfve, B. (Eds). Coastal marine ecosystems of Latin America. Springer, Berlin, pp. 131-145. 2001.
- MELCHIORS. J.; DI-BERNARDO M.; PONTES, G. M. F.; OLIVEIRA RB, SOLÉ M & KWET, A. Reprodução de *Pseudis minuta* (Anura, Hylidae) no sul do Brasil. Phyllomedusa, v. 3 : p. 61-68. 2004.
- MARAGNO, F. P. ; CECHIN, S. Z. Reproductive biology of *Leptodactylus fuscus* (Anura, Leptodactylidae) in the subtropical climate, Rio Grande do Sul, Brazil. Iheringia, Sér. Zool., Porto Alegre, v. 99(3) : p. 237-241. 2009.
- NUNES, I.; KWET, A.; POMBAL, JR, J. P. Taxonomic Revision of the *Scinax alter* Species Complex (Anura: Hylidae). Copeia, n 3, p. 554–569. 2012.
- PRADO, C.P. A. UETANABARO, M. Reproductive biology of *Lysapsus limellus* Cope, (Anura, pseudodae) in Pantanal, Brasil. Zoocriadores v 3: p 25-30. 2000.
- SANTOS, I. R. S.; OLIVEIRA, C. morfologia testicular durante o ciclo reprodutivo *Dendropsophus minutus* (Peters) (Anura, Hylidae). Revista brasileira de Zoologia v. 24 (1): p. 64-70. 2007.
- SHINE R. Sexual selection and sexual dimorphism in the Amphibia. Copeia p.297–306. 1979.
- SILVANO, D.L., AND SEGALLA, M.V. Conservation of Brazilian amphibians. Conserv. Biol. v. **19** (3): p. 653–658. 2005.
- TOLEDO1 L. F.; ZINA, J.; HADDAD, C.F. B. Distribuição espacial e temporal de uma comunidade de anfíbios anuros do município de Rio Claro, São Paulo, Brasil. *Holos Environment*, v. 3, n. 2, 2003 – p. 136-149. 2003.
- TOLEDO, L. F.; HADDAD, C. F. B. Reproductive biology of *Scinax fuscomarginatus* (Anura, Hylidae) in south-eastern Brazil. Journal of Natural History, 39 (32): 3029–3037. 2005.
- VALDERRAMA-VERNAZA M.; SERRANO-CARDOZO V. H.; RAMÍREZ-PINILLA M P. Reproductive Activity of the Andean Frog *Ranitomeya virolinensis* (Anura: Dendrobatidae). Copeia v. 2,p. 211–217. 2010.
- ZUG,G.R.;Herpetology an introductory biology of amphians and reptiles. Academic prees inc. p:169-213. 1993